

# 花粉外壁纹饰的图像分析方法

裴勇<sup>1)</sup> 付慧<sup>1)</sup> 陆光沛<sup>2)</sup> 袁军辉<sup>2)</sup> 曹卫群<sup>1)</sup> 陈建军<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(北京林业大学信息学院, 北京 100083) <sup>2)</sup>(北京林业大学园林学院, 北京 100083)

**摘要** 花粉外壁纹饰特征作为衡量被子植物进化程度的参考依据之一,对其准确刻画具有重要意义。论文分析了传统测量方法的特点和不足,提出了利用图像处理技术测量花粉外壁纹饰图像的方法。该方法实现了对于花粉外壁纹饰图像快速、精确的测量。通过对实验数据的对比分析,验证了该文提出方法的可靠性。

**关键词** 图像处理 花粉外壁纹饰 芍药

中图法分类号: TP391 文献标志码: A 文章编号: 1006-8961(2010)08-1230-06

## A Method for Image Analysis of the Pollen Exine Sculpture

PEI Yong<sup>1)</sup>, FU Hui<sup>1)</sup>, LU Guangpei<sup>2)</sup>, YUAN Junhui<sup>2)</sup>, CAO Wei-qun<sup>1)</sup>, CHEN Jian-jun<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(School of Information Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

<sup>2)</sup>(School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

**Abstract** The fidelity in description of pollen exine sculpture, which is one of the key benchmarks to measure the evolutionary extent of angiosperms, is of great academic and practical significance. Following an analysis of the features and deficiencies of the existent methods to measure the pollen exine sculpture, we provide a method based on computer image processing technology. The new method, whose robustness is verified through comparative analysis of experimental data, achieves rapid and accurate measurements of the pollen exine sculpture.

**Keywords** image processing, pollen exine sculpture, radix paeonia

## 0 引言

花粉和孢子的形态具有很强的遗传保守性,较少受到外界环境的影响,其形态属于比较稳定的性状<sup>[1]</sup>。近些年来,不少学者借助扫描电镜观察园艺植物的花粉形态,阐释了许多园艺植物种间或品种间的亲缘关系<sup>[2-3]</sup>。花粉形态既包括花粉粒大小形状的特征也包括花粉外壁纹饰的特征。一些国内学者通过对芍药栽培品种的花粉<sup>[4]</sup>、山茶属红山茶组植物的花粉<sup>[5]</sup>进行外壁纹饰特征的研究,阐明了相应的种(品种)间演化顺序。可见花粉外壁纹饰特征确实可作为衡量被子植物进化程度的参考依据之

一<sup>[6]</sup>,因此准确刻画花粉外壁纹饰特征具有重要意义。

以芍药属植物花粉形态为例,外壁纹饰特征的提取一般采用以下指标:网眼直径(穿孔直径)、单位面积网眼数(穿孔频率)、网眼(穿孔)面积百分比、脊宽等,测量方法多采用网格交叉法;外壁纹饰类型则被研究者直观感性地划分为网状、小穴状、穴状、皱波状、小孔状、粗网状等无序多态类型<sup>[4,7-9]</sup>。该测量体系下制定的各项指标,量化程度较低;使用的测量方法主要依赖于人眼睛的判断、手工的丈量,测量精度低且操作繁琐。仅以一项最基本的指标“网眼直径”为例,在5 000倍放大的电镜照片下,研究者将外缘不规则型的网眼简单视作圆形,打上网

基金项目:国家自然科学基金项目(60703006)

收稿日期:2010-02-02;改回日期:2010-04-06

第一作者简介:裴勇(1986—),男,北京林业大学计算机应用技术专业硕士研究生。主要研究方向为数字图像处理。

E-mail: pygoodmood@gmail.com

通讯作者:曹卫群。E-mail: wei-qun.cao@126.com

格,以“直径”来刻画网眼的大小并对区域内所有网眼一一进行量测,进而计算网眼面积百分比;在商用计算机辅助设计软件 AutoCAD 环境中,用“椭圆”拟合网眼,并用软件的尺寸测量工具丈量椭圆长短轴长(手工 CAD 法),本质上也还是依赖于人的主观因素,不能精确地反映花粉外壁纹饰特征,有一定程度的信息失真。在进行大样本量的研究时,由于信息提取方法不当产生的误差累积,很可能极大地影响实验分析结果的可靠性。

本文通过图像处理技术对花粉外壁纹饰图像进行分割,并在分割基础上进行一次性统计,能准确、快速地刻画花粉外壁纹饰特征,从而为衡量被子植物进化程度提供重要的参考依据,在园艺植物种间或品种间的亲缘关系的研究方面具有重要实践意义和应用价值。

## 1 相关工作

### 1.1 国内外利用图像分析方法进行植物形态研究的工作进展

利用图像分析处理技术进行花粉外壁纹饰特征的提取,目前在国内外尚未见专题学术性报道。在植物形态的研究方面,植物叶部特征的提取,已有许多应用图像处理技术的成功尝试,涉及叶面积<sup>[10]</sup>、叶形<sup>[11]</sup>、叶色<sup>[12]</sup>多个方向。对同一样品不同测量方法的统计结果显示,与传统的网格交叉法、称重法、长宽系数法相比,图像处理法在叶面积的测量上能够达到更高的精度,因此更适合研究分析的需要<sup>[13]</sup>。

### 1.2 应用于植物形态分析中的图像处理方法简介

图像处理方法主要是对图像中感兴趣的对象进行提取和测量,以获得它们的客观信息从而建立对图像中对象的描述。可以看做是一个从图像到数据的过程。利用图像处理技术进行花粉外壁纹饰特征的提取,涉及到边缘检测、图像分割以及目标的测量、表达、描述。虽然目前的图像处理技术已经有了很多成熟方法来完成上述工作,如边缘检测算子、阈值分割法、连通分量计算法等,但在针对具体应用问题时仍要根据图像中对象的特点来选择和设计技术方案。文献[13]使用阈值分割法基于白色背景下拍摄的植物叶片图像进行植物叶面积测量,获得了准确的测量结果,但是由于花粉外壁纹饰图像背景较为复杂,单一的阈值分割法无法实现其分割。本

论文利用多种图像处理技术,采用“分割—再次分割—修补”的技术方案,实现了对于花粉外壁纹饰图像快速、准确、无损的测量,为花粉与孢子的形态研究提供高精确度的数据参考。

## 2 花粉外壁纹饰图像分析

### 2.1 总体思路以及系统设计框架

花粉外壁网眼数量、面积及其所占花粉外壁面积百分比是花粉外壁纹饰的重要描述数据。利用图像处理方法针对高倍显微镜生成的花粉图像进行网眼数量、面积和所占花粉外壁面积百分比的测量和计算,以提高测量的效率并降低测量误差。

处理花粉图像的步骤如下:

- 1) 针对花粉图像的特点,将花粉外壁的网眼区域看做前景区域,并将其他区域看做背景区域,利用图像分割方法获得仅包含花粉外壁网眼的图像;
- 2) 在得到的网眼图像基础上,利用原图像中网眼的边缘信息进行网眼外边缘的修补;
- 3) 最后根据得到的网眼图像,计算出网眼的数量、面积和所占花粉外壁面积百分比。

在花粉图像的处理过程中,允许对网眼区域进行手动修补,以便取得更精确的结果。

如图 1 所示为进行花粉外壁纹饰图像分析的技术方案。下面依次对其中二值化、连通成分方法去除杂点、修正网眼区域、手动修补等的实现方法进行详细介绍。

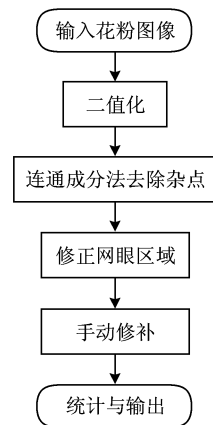


图 1 进行花粉外壁纹饰图像分析的技术方案

Fig. 1 Technical Program for analyzing the image of the pollen exine sculpture

### 2.2 二值化

将网眼区域看做图像的前景区域,其他区域

看做背景区域,通过二值化将前景区域与背景区域分离。电子显微镜拍摄的花粉图像中光照不均匀,形成的高光和暗区会使网眼纹理模糊,处理困难。同时,由于花粉外壁是 3 维曲面,成像后会产生变形,曲面弯曲程度越大变形越剧烈。因此需要在花粉图像中选择一个光照较均匀,表面较为平整、变形较小的区域进行处理,然后对这个较为理想的图像区域,利用阈值方法将其进行分割。由于不同花粉图像差异较大,难以适用具有通用性的阈值选取方法。系统采用传统的 Otsu-r 方法<sup>[14]</sup>计算的阈值作为初始参照阈值  $t$ ,然后由用户输入差值  $r$ ,令  $t-r$  作为二值化阈值。由大量花粉图像处理实验可得  $r$  值的经验取值范围为  $[0,20]$ 。根据给定参照阈值,通常尝试 1~3 次即可获得理想分割效果。通常背景区域灰度值越低,所选阈值也越小。

如图 2 所示分别为一个花粉图像实例及其二值化结果。(在文中图 3 至图 7 均为对图 2(a)处理的分步结果)。

由图 2(b)可见,由于花粉图像的部分背景区域灰度值与网眼区域灰度值接近,因此有部分背景区域被错误的作为网眼区域保留下来。这些被错分的背景区域大多面积较小,称为杂点。采用连通成分法进行杂点去除。

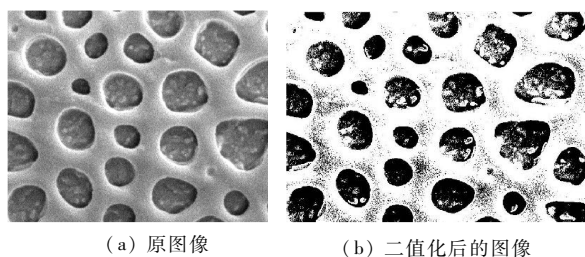


图 2 花粉图像及其二值化结果

Fig. 2 The image of the pollen and binarized result

### 2.3 连通成分方法去除杂点

如图 3 所示为局部放大的图 2(a)二值化结果图。由图 3 可见,杂点与网眼区域的连通成分面积大小存在差异,网眼区域的连通成分面积显著大于杂点的连通成分面积。针对此特征,可以利用连通成分的面积大小作为判断依据去除杂点。即设置一个阈值  $k$ ,若连通成分的面积大于阈值则保留,否则作为杂点去除。阈值的选取与图像的大小、图中网眼的个数及其面积有关。一般来说阈值  $k$  取值应小

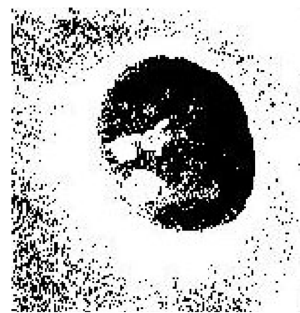


图 3 局部二值化结果

Fig. 3 Local binarized result

于网眼的面积并大于杂点的面积,符合下式:

$$k = S \frac{P}{n} - q \quad (1)$$

式中, $S$  为被测图像总像素个数; $n$  为被测图像中总网眼个数; $p$  为花粉外壁的网眼面积占总面积比率; $q$  为针对具体图像所取的经验值,取值范围  $-150 \sim 150$ 。一般来说, $q$  的取值应保证阈值  $k$  大于最大的杂点的连通成分面积,且小于最小的网眼的连通成分面积。

连通成分法去除杂点之后图像处理结果如图 4 所示。将图 4 与原图像(图 2(a))比较可知,个别面积较小的网眼被滤除掉了,绝大多数网眼被保留下来,只是保留下来的网眼区域存在很多孔洞。出现这些误差的原因如下:

1) 由于图像中部分网眼区域灰度和部分背景区域灰度接近,同时网眼中存在杂质和柱状凸起,它们的灰度与网眼灰度差异较大,因此在利用二值化方法分割图像时,不可避免地损失了一部分前景成分。

2) 一部分网眼本身面积较小,当网眼面积小于连通成分去除步骤中所设定的阈值时,就会被当作杂点去除。

以上误差的产生与图像中花粉对象的特征有关,不可避免,利用原图像中网眼的边缘信息对结果进行修正,修补网眼中的孔洞并添加被滤除的网眼。

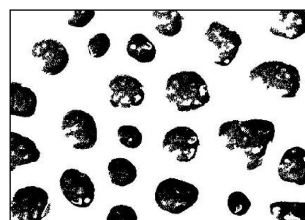


图 4 连通区域运算结果

Fig. 4 The result of connected region calculation

### 2.4 修正网眼区域

原图像中网眼的边缘信息能够准确标定网眼位置和轮廓,可以用来修正网眼区域,即补全存在孔洞的网眼区域,并添补缺失的网眼。

选择 Canny 算子来得到网眼的边缘信息。Canny 边缘检测是一种非常有效的边缘检测算法,它能够准确得到多个方向上的边缘,并且将轮廓上的边缘进行连接,适用于多目标区域的边缘检测。对原图像(图 2(a))Canny 边缘检测后的效果如图 5 所示。

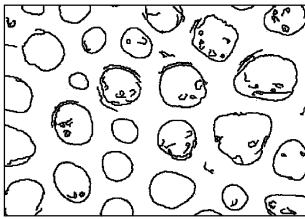


图 5 Canny 边缘检测结果

Fig. 5 The result of Canny edge detection

将得到的边缘叠加到连通成分去除后的结果图上,并利用形态学运算中的填洞算法<sup>[15]</sup>填充图像中所有闭合轮廓内部的孔洞,可以得到对应于闭合轮廓的完整无孔洞的网眼区域。花粉图像中除了网眼这一主要特征以外,还有很多细节特征如褶皱、凹凸、明暗等,这些造成了花粉边缘图像中存在大量的非轮廓的细节边缘。这些多余边缘将导致修补结果中出现杂点。由于杂点具有比较细小的形态特征,使用形态学运算中的开运算(先进行腐蚀运算,再进行膨胀运算)将其去除。这里,可根据杂点的面积大小调整腐蚀运算与膨胀运算的强度,得到优化的结果。如图 6 所示为修正结果。

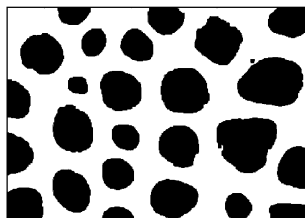


图 6 修正结果

Fig. 6 Adjusted image

### 2.5 遗漏网眼的手动修补

为了处理实际应用中可能出现的特殊情况,设计了界面友好的手动修正工具,允许在完成上述修补之后对遗漏及不完善的网眼进行修补,并去除尚

存的杂点。系统将对应网眼结果图像的网眼轮廓线与原始图像合成参照图像并将其与网眼结果图像进行对比(如图 7 所示,其中左图中黑色线条为对照轮廓线),在手动修补网眼区域的过程中,实时地对图 7 中网眼区域轮廓线进行对应修改,使用户能够参照原始图像对网眼的轮廓位置和大小进行修补。系统提供了多个不同大小的画笔用于网眼的修补,用户可以根据具体情况选择笔的尺寸,提高修补效率。

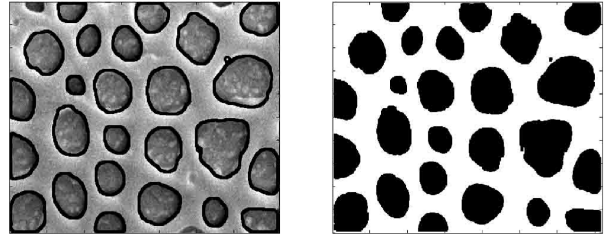


图 7 手动修补界面

Fig. 7 User interface for manual adjustment

## 3 实验结果与分析

为了验证本系统的有效性,采用传统手工方法与基于图像处理的方法对 3 幅花粉显微图像进行测量,结果如表 1 所示( $R^2$  为相关系数)。其中花粉图像 1 及其处理过程如图 2—图 7 所示,花粉图像 2、3 及其处理过程分别如图 8、图 9 所示。

表 1 本文方法测量结果与手工法测量结果的对比及相关性  
Tab. 1 Contrast and relativity between the results of method proposed by this paper and manual method

| 网眼编号  | 网眼面积/ $\mu\text{m}^2$ |       |        |       |        |       |
|-------|-----------------------|-------|--------|-------|--------|-------|
|       | 花粉图像 1                |       | 花粉图像 2 |       | 花粉图像 3 |       |
|       | 本文方法                  | CAD 法 | 本文方法   | CAD 法 | 本文方法   | CAD 法 |
| 01    | 0.69                  | 0.65  | 0.309  | 0.250 | 2.116  | 1.700 |
| 02    | 0.78                  | 0.75  | 1.000  | 0.955 | 0.946  | 0.916 |
| 03    | 1.02                  | 1.08  | 0.487  | 0.451 | 2.421  | 2.415 |
| 04    | 1.04                  | 0.94  | 0.096  | 0.078 | 1.282  | 1.285 |
| 05    | 0.16                  | 0.13  | 0.690  | 0.664 | 1.675  | 1.691 |
| 06    | 1.14                  | 0.94  | 1.072  | 1.061 | 1.622  | 1.589 |
| 07    | 0.95                  | 0.86  | 0.872  | 0.866 | 1.726  | 1.461 |
| 08    | 0.36                  | 0.32  | 0.901  | 0.881 | 1.972  | 1.883 |
| ...   | ...                   | ...   | ...    | ...   | ...    | ...   |
| $R^2$ | 0.89                  |       | 0.982  |       | 0.901  |       |

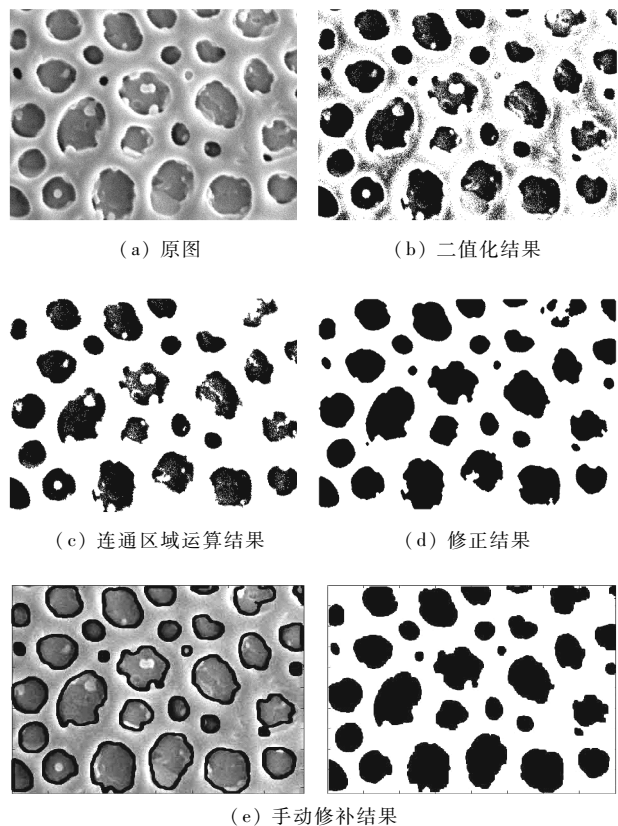


图 8 花粉图像 2 及其处理过程

Fig. 8 Process of pollen image 2

由表 1 可知,两组数据具有显著相关性,所得网眼区域面积值稳定,这表明采用数字图像处理技术进行花粉外壁纹饰图像分析是有效的。经实验统计,在平均使用熟练情况下,使用本文方法处理一幅花粉图像的平均时间小于 25 s。而采用传统手工 CAD 法处理一张图片的平均时间为 30 min。显然,与传统手工丈量方法相比,本文方法不仅更加精确,在效率上也有显著提高,能快速、有效地对花粉外壁纹饰图像进行测量。

## 4 结 论

花粉外壁纹饰特征是对其形态进行研究的重要参照数据。快速、精确地测量图像中的网眼非常重要。虽然传统网格交叉法的测定结果并不失可信性,但该方法依赖人为手工测定,受人为因素影响较大,对于形状不规则的网孔测量精度低。

基于图像处理的植物花粉外壁纹饰特征的测量方法,根据植物花粉图像像素点的分布特征及灰度值,应用灰度阈值分割、连通量阈值分割、边缘检测

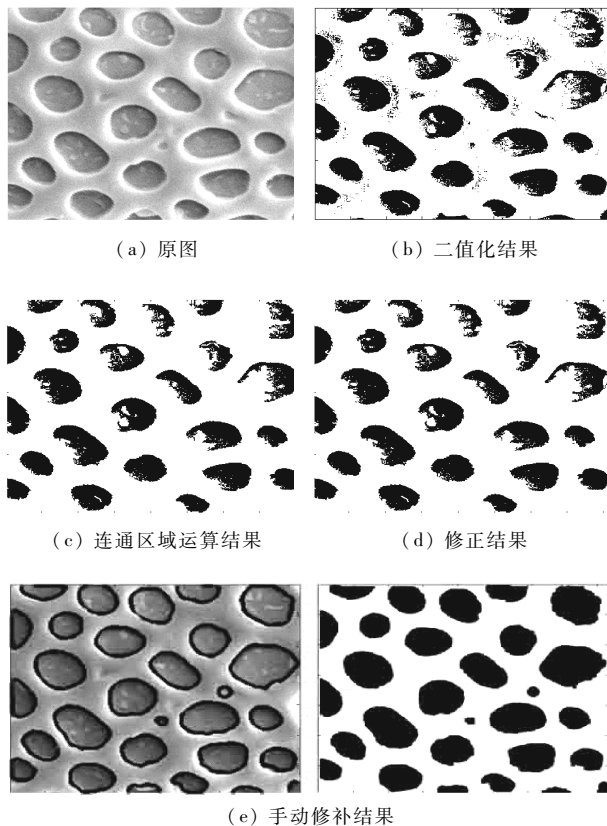


图 9 花粉图像 3 及其处理过程

Fig. 9 Process of pollen image 3

修正等方法,提取花粉外壁网眼并统计其个数及面积分布特征。该方法具有有效性、实用性和可靠性,能够胜任实际需要,提高统计的效率和数据的精度。同时,这一技术方案对于同类课题即复杂背景下多目标面积分布的统计也具有参考价值。另外,该方法不受花粉外壁纹饰特征复杂性的影响,可有效适用于植物花粉外壁纹饰的相关研究,可结合其他植物花粉的具体分析需要进行功能拓展,具有广阔的应用前景。

## 参考文献 (References)

- [1] Erdtman G. Palynology Handbook [M]. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences Laboratory of Ancient Plant Pollen Group, Translated. Beijing: Science Press, 1978: 6-45. [埃尔特曼 G 著. 孢粉学手册 [M]. 中科院植物研究所古植物研究室孢粉组, 译. 北京: 科学出版社, 1978: 6-45.]
- [2] Zhang Xiuying, Wang Yan, Wang Guiqing. Observations and comparisons on the pollen morphology of peach-blossom cultivars germplasm resources [J]. Journal of Beijing Forestry University, 1997, 19(2): 57-62. [张秀英, 王雁, 王桂萍. 桃花种质资源

- 花粉形态的观察与比较[J]. 北京林业大学学报, 1997, 19(2): 57-62.]
- [ 3 ] Wang Taoyin, Guo Qiaosheng. Comparison on morphological characteristics of pollen grains of various chrysanthemum morifolium for medicine[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(2): 109-112. [王桃银,郭巧生. 药用菊花不同栽培类型花粉形态比较研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 109-112.]
- [ 4 ] Jin Biao, He Xiaodi, Wu Jianhua, et al. Pollen morphology and its relationship with cultivar evolution in paeonia lactiflora[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2005, 21(1): 63-68. [金彪,何小弟,吴建华,等. 芍药花粉的形态特征及其与品种演化的关系[J]. 江苏农业学报, 2005, 21(1): 63-68.]
- [ 5 ] Ni Sui, Li Jiyuan, Tian Min, et al. Pollen exine sculpture of sect. Camellia in genus camellia and its taxonomic significance [J]. Journal of Nanjing Forestry University, 2007, 31(4): 16-20. [倪穗,李纪元,田敏,等. 红山茶组植物花粉外壁纹饰特征及其演化关系[J]. 南京林业大学学报, 2007, 31(4): 16-20.]
- [ 6 ] Walker Jw. The Original Meaning of the Evolution of Angiosperm Pollen Exine [M]. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences Laboratory of Ancient Plant Pollen Group, Translated. Beijing: Science Press, 1980: 91-134. [Walker Jw. 原始被子植物花粉外壁进化的意义[M]. 中科院植物所古植物研究室孢粉组,译. 北京:科学出版社, 1980: 91-134.]
- [ 7 ] Xi Yizhen. The pollen morphology and exine ultrastructure of Paeonia L in China [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1984, 26(3): 241-246. [席以珍. 中国芍药属花粉形态及其外壁超微结构的观察[J]. 植物学报, 1984, 26(3): 241-246.]
- [ 8 ] Yuan Tao, Wang Lianying. Pollen morphology of several tree peony wild species and discussion on its evolution and taxonomy [J]. Journal of Beijing Forestry University, 1999, 21(1): 17-21. [袁涛,王莲英. 几个牡丹野生种的花粉形态及其演化分类的探讨[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(1): 17-21.]
- [ 9 ] Guo Xianfeng, Wang Lianying, Yuan Tao. Study on pollen morphology of 4 wild herbaceous peony [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2005, 41(5): 184-186. [郭先锋,王莲英,袁涛. 4种野生芍药的花粉形态研究[J]. 林业科学, 2005, 41(5): 184-186.]
- [ 10 ] Chen Dingcai, Wang Dingcheng, Zha Jinshui. Research on measurement of realistic planting leaf area based on machine vision[J]. Computer Applications, 2006, 26(5): 1226-1228. [陈鼎才,王定成,查金水. 基于机器视觉的现实叶片面积测量方法的研究[J]. 计算机应用, 2006, 26(5): 1226-1228.]
- [ 11 ] Zhu Jing, Tian Xingjun, Chen Bin, et al. Computer recognition system of plant leaf-shape[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2005, 22(5): 599-604. [朱静,田兴军,陈彬,等. 植物叶形的计算机识别系统[J]. 植物学通报, 2005, 22(5): 599-604.]
- [ 12 ] Xu Guili, Mao Hanping, Li Pingping. Extracting color features of leaf color Images[J]. Transactions of the CSAE, 2002, 18(4): 150-154. [徐贵力,毛罕平,李萍萍. 缺素叶片彩色图像颜色特征提取的研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18(4): 150-154.]
- [ 13 ] Wang Yongjiao, Zhang Yin, Zhang Sanyuan. Approach to measure plant leaf area based on Image process[J]. Computer Engineering, 2006, 32(8): 211-212. [王永皎,张引,张三元. 基于图像处理的植物叶面积测量方法[J]. 计算机工程, 2006, 32(8): 211-212.]
- [ 14 ] Zhou Zhiyu, Liu Xiang, Yang Donghe. Application of machine vision in measurement of cocoon superficial area[J]. Journal of Textile Research, 2006, 27(12): 29-31. [周志宇,刘喜昂,杨东鹤. 机器视觉在蚕茧表面积测量中的应用[J]. 纺织学报, 2006, 27(12): 29-31.]
- [ 15 ] Li Li. Research on the Recognition Algorithm for Concentration and Diameter Distribution of Indoor Suspended Particulate[D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2008. [李莉. 室内悬浮颗粒物浓度与粒度图像识别算法的研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2008.]